

THESIS

München 1903

Über den Einfluß von Desinfektionsmitteln
auf die hygienische Beschaffenheit der Milch

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

Gottfried  Pfeiffer

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der
Tierärztlichen Fakultät der
Universität München
Vorstand: Prof. Dr. L. Kotter

ÜBER DEN EINFLUSS VON DESINFEKTIONSMITTELN AUF
DIE HYGIENISCHE BESCHAFFENHEIT DER MILCH

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Gottfried Pfeiffer

aus

Meckenbeuren

München 1963

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. K. Ullrich

Referent: Prof. Dr. L. Kotter

Tag der mündlichen Prüfung: 22. 2. 63

UNI-DRUCK; München 13, Amalienstraße 85

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154022_0082

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. SCHRIFTTUM	2
I. Untersuchungsverfahren	2
II. Desinfektionsmittelrückstände in Milch und ihr Einfluß auf mikrobiologische Vorgänge	3
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	9
I. Material	9
1. Desinfektionsmittel	9
2. Milch	9
II. Methodik	9
1. Reduktaseprobe	10
2. Hemmstofftest	10
3. Bestimmung der Gesamtkeimzahl	10
4. Bestimmung des Säuerungsvermögens	11
III. Versuche	11
1. Modellversuche	11
a) Beeinflussung der Gesamtkeimzahl durch Desinfektionsmittel	12
b) Beeinflussung der Reduktaseprobe durch Desinfektionsmittel	24
c) Beeinflussung des TTC-Hemmstofftests durch Desinfektionsmittel	28
d) Beeinflussung des Säuerungsvermögens durch Desinfektionsmittel	28
2. Besprechung der Ergebnisse aus den Modell- versuchen	33
a) Keimzahl	33

	Seite
b) Reduktaseprobe und Hemmstofftest	33
c) Säurebildung	35
3. Der Praxis angegliche Versuche	36
a) Ergebnisse der Oberflächenspannungsmessungen an Desinfektionslösungen	37
b) Desinfektionsmittelrückstände in Milchflaschen	37
c) Einfluß der in den Flaschen verbliebenen Desinfektionsmittelreste auf die mikrobiologischen Vorgänge	37
4. Besprechung der Ergebnisse aus den der Praxis angeglichenen Versuchen	38
a) Oberflächenspannungen der Desinfektionslösungen	38
b) Desinfektionsmittelrückstände	38
c) Einfluß der in den Flaschen verbliebenen Desinfektionsmittelreste auf die mikrobiologischen Vorgänge in der Milch	38
D. DISKUSSION	40
E. ZUSAMMENFASSUNG	46
F. LITERATURVERZEICHNIS	47
LEBENS LAUF	

A. EINLEITUNG

Bei der Beurteilung von Milch stehen hygienische Gesichtspunkte meist im Vordergrund. Der günstige Ausfall der bisher üblichen Hygienetests läßt nun aber nicht mit Sicherheit darauf schließen, daß eine Milch tatsächlich sorgfältig gewonnen und behandelt worden ist, weil das Keimwachstum auch durch chemische oder antibiotische Einflüsse unterdrückt sein könnte. In der einschlägigen Literatur findet man zahlreiche Berichte über die Wirkung von Antibiotika und Sulfonamiden, die im allgemeinen von Mastitisbehandlungen herrühren und das Keimwachstum in der Milch beeinflussen. Weniger aufschlußreich sind dagegen bisherige Angaben über den Einfluß von Desinfektionsmittelrückständen, die nach Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen bei Verzicht auf Nachspülung in den entsprechenden Behältnissen verbleiben auf den Keimgehalt und damit auf die hygienische Beschaffenheit der Milch. In der vorliegenden Arbeit sollte diese Wirkung untersucht werden. Insbesondere sollte ermittelt werden, mit welchen Desinfektionsmittelkonzentrationen auch bei hygienisch zweifelhafter Beschaffenheit der Milch der Anschein einer einwandfreien Qualität vorgetäuscht werden kann.

B. SCHRIFTTUM

I. UNTERSUCHUNGSVERFAHREN

Hemmstoffe in der Milch sind ohne Rücksicht auf Art, Menge und Herkunft abzulehnen. Aus diesem Grunde haben sich zahlreiche Autoren um die Ausarbeitung geeigneter Nachweisverfahren bemüht. Die dabei entwickelten Methoden sind physikalisch - chemischer, spezifisch chemischer oder biologischer Art.

Weist der Verdacht schon von vornherein auf eine bestimmte Desinfektionsmittelgruppe hin (Chlor-, Phenolpräparat, Ampholytseife oder quaternäre Ammoniumverbindung), so können die entsprechenden spezifisch chemischen Nachweismethoden Anwendung finden. Für die routinemäßige Milchuntersuchung genügen aber meist biologische Untersuchungsverfahren, weshalb auch die chemischen Nachweismethoden hier unberücksichtigt bleiben sollen.

Wie aus der zusammenfassenden Arbeit von KOTTER, TERPLAN und SCHULZ (13) hervorgeht, beruhen die bisher entwickelten biologischen Untersuchungsverfahren zum Nachweis von Hemmstoffen in Lebensmitteln zumeist auf dem reduktometrischen Prinzip. Diese Verfahren unterscheiden sich in der Auswahl des Redoxindikators (Methylenblau, Resazurin, Triphenyltetrazoliumchlorid), durch die Art der verwendeten Testkulturen (Streptokokken, Laktobazillen, Mikrokokken) oder durch Hinzufügen eines artfremden Substrates (Nitrat), das durch die Testkultur reduziert wird. Unter diesen Verfahren hat sich nach KOTTER, TERPLAN und SCHULZ (13) insbesondere der TTC - Test nach NEAL und CALBERT (28) in der von DRAGON (6) veröffentlichten Modifikation eingeführt. (Siehe Methodik)

Häufig werden auch Methoden angewandt, bei denen die Spaltung des Milchezuckers oder eines zugesetzten Zuckers als Wachstumsindikator der Testkeime herangezogen wird. Durch Zugabe von Farbindikatoren oder durch Säuretitration (FLEISCHMANN) kann die Menge der gebildeten Milchsäure nachgewiesen werden. Im Kluyver - Test dient das Volumen der durch Glukosespaltung angefallenden Kohlensäure als Wachstumsindikator der Testkultur (Hefe).

DRAGON (6) hat den Kluyver - Test mit dem TTC - Test kombiniert. Nach diesem kombinierten Testverfahren wird derjenigen Milchprobe, die sich im TTC - Test als hemmstoffhaltig erwies, neben der Glukoselösung eine Hefe - Testkultur zugegeben. Da die Hefe durch Antibiotika nicht gehemmt wird, zeigt ein Unterbleiben der CO_2 - Bildung durch Glukosespaltung die Anwesenheit eines chemischen Hemmstoffes an (z.B. Desinfektionsmittelreste).

Der zur Wertigkeitsbestimmung von Antibiotika oder zur Sensibilitätsbestimmung von Keimen häufig verwendete Agar - Diffusionstest ist als biologischer Hemmstofftest ebenfalls beschrieben worden. Dieses Verfahren ist nach JACQUET und STEEG (8) jedoch weniger geeignet, da man mit den in der Milch zu erwartenden Hemmstoffkonzentrationen ohne vorhergehende Eindikung der betreffenden Milchprobe wenig Aussicht auf Erfassung des Hemmstoffes hat.

II. DESINFEKTIONSMITTELRÜCKSTÄNDE IN MILCH UND IHR EINFLUSS AUF MIKROBIOLOGISCHE VORGÄNGE

Die in der Literatur bisher bekannt gewordenen Daten über tatsächlich ermittelte Desinfektionsmittelkonzentrationen und deren Einfluß auf die mikrobiologischen Vorgänge in der Milch betreffen zumeist solche Desinfektionsmittel, deren wirksame Substanz aus Chlor oder aus quaternären Ammoniumverbindungen (QAV) besteht. Nur verhältnismäßig wenige Untersucher berichteten auch über den Einfluß von Phenol bzw. Ampholytseifen enthaltenden Desinfektionsmitteln auf die Milch.

Der tatsächliche Gehalt der Handelsmilchen an Desinfektionsmitteln ist nur selten geprüft worden. KOSIKOWSKI und Mitarbeiter (12) fanden unter 832 untersuchten Proben nur 4 %, die bis zu 3 mg QAV pro kg Milch enthielten. JOHNS (10) konnte zwar unter 642 geprüften Milchproben einige als hemmstoffhaltig ansprechen, bei der spezifischen Untersuchung erwies sich aber keine davon als QAV-haltig. THOMAS und Mitarbeiter (36) stellten fest, daß bei 5226 untersuchten Proben 1 - 2 % mehr als 12 mg Hypochlorit pro kg Milch enthielten.

Mehrere Autoren untersuchten auch die Wirkung von Desinfizienten auf die

hygienische Beschaffenheit und Verarbeitungsfähigkeit der Milch. So berichten BABEL (1) und WILDBRETT (40), daß bereits 3 mg QAV pro kg Milch genügen, um die Milchsäuerung leicht zu hemmen. MILLER und ELLIKER (22) geben dagegen an, daß dazu 5 mg QAV pro kg Milch notwendig sind. WILDBRETT (40), LINDGREEN (18) und CURRY und BARBER (4) fanden, daß 10 - 25 mg QAV pro kg Milch zu einer starken Säurehemmung führen. Vollständige Säurehemmung tritt nach MILLER und ELLIKER (22) bei 25 - 30 mg, nach BABEL (1) und CURRY und BARBER (4) bei 50 - 100 mg QAV kg Milch ein.

Chlorverbindungen hemmen die Säuerung im Vergleich zu den QAV erst bei höheren Konzentrationen. Einerseits haben zwar auch 5 mg verfügbares Chlor im Liter Milch die Säuerung in manchen Fällen verzögert, wie MILLER und ELLIKER (22) berichten, andererseits wurde aber von WILDBRETT (40) beobachtet, daß 5 - 20 mg Chlor, also etwa 10 - 40 mg Natriumhypochlorit pro kg Milch die Säurebildung sogar stimuliert haben. Im Bereich von 25 - 200 mg Chlor pro kg Milch stellten BABEL (1) und CALBERT (2) starke Säurehemmung fest; nach MILLER und ELLIKER (22) war bei 100 - 200 mg Chlor pro kg Milch keine Säuerung mehr zu beobachten.

Hinsichtlich der Wirkung einer Ampholytseife in Milch berichten LINDGREEN (19) sowie THOME und Mitarbeiter (37), daß mikrobielle Säure- und Aromabildung in der Milch erst ab über 500 mg pro kg Milch gehemmt werden.

Im Gegensatz zu diesen verhältnismäßig hohen Konzentrationen wirkt nach KIERMEIER (11) Phenol schon in Konzentrationen von 1 mg pro kg Milch säurehemmend.

Bezüglich des Einflusses des Insektizids "Jodophor" auf das Säuerungsvermögen der Milch gibt BABEL (1) bekannt, daß es in niedriger Konzentration die Säurebildung stimulieren kann.

PIETZ (30) berichtet auch über den Einfluß von Hypochlorit auf das Ergebnis der Reduktaseprobe. Danach tritt bereits in Konzentrationen von 50 mg Hypochlorit pro kg Milch eine Verzögerung in der Reduktasebildung ein. CLEGG (3) stellt Gleiches in einer Spanne von 25 - 100 mg QAV pro kg Milch fest.

Keimwachstum und Keimvermehrung werden erst durch relativ hohe Konzentrationen an Desinfektionsmitteln in der Milch unterdrückt bzw. verhindert. Diese

Konzentrationen liegen nach CURRY und BARBER (4) wesentlich höher als jene, die bereits säure- und aromabildende Fermentsysteme zu blockieren vermögen. Die QAV wirkten nach CURRY und BARBER (4) schon in Konzentrationen von über 25 mg pro kg Milch wachstumshemmend. MÜLLER (27) stellt fest, daß eine handelsübliche QAV in einer Konzentration von 0,57 % (das entspricht etwa 250 mg wirksamer Substanz pro kg Milch) 5 % der Testkeime abtötet. Bei der Ampholytseife erzielt den gleichen Effekt eine Konzentration von 0,1 % in Magermilch (das entspricht 100 mg wirksamer Substanz pro kg Magermilch), beim phenolhaltigen Phosphat eine Konzentration von 1100 mg handelsüblicher Substanz pro kg Magermilch.

Wie CURRY und BARBER (4) berichten, können sublethale Konzentrationen unter Umständen zu einer Keimselektion führen. Sie teilen mit, daß sich eine Säureweckerkultur, mit der QAV-haltige Milch beimpft wird, rasch dem Medium anpaßt. War die Konzentration der QAV in der Milch nur so hoch, daß Aroma- und Säurebildung verhindert wurden, so kehrte nach Gewöhnung der Testkultur an das Medium die typische, geschmackliche Säureproduktion bald zurück. Auch LINDGREEN (18) beobachtete, daß bei Züchtung eines Teststammes in Milch, die 0,001 % QAV enthielt bald eine Gewöhnung der Testorganismen an das Milieu eintrat. Demgegenüber berichtet v. d. MOSEL (24), daß keiner der in die Untersuchungen einbezogenen 41 Teststämme durch langdauernde Einwirkung unterschwelliger Konzentrationen von Tego 51, also einer Ampholytseife, Resistenzerscheinungen aufwies.

Bei der direkten Bestimmung der Keimzahl einer desinfektionsmittelhaltigen Milch mittels des Koch'schen Plattenverfahrens muß unbedingt an die Möglichkeit der Verklumpung mehrerer Bakterienzellen zu einem Bakterienkonglomerat gedacht werden. So gaben Mc. CULLOCH und Mitarbeiter (21), sowie MÜLLER (27) bekannt, daß unterschwellige QAV-Konzentrationen wegen ihrer oberflächenaktiven Wirkung auf der Bakterienzelle einen Überzug bilden, wodurch die Tendenz zur Verklumpung gegeben ist. Die verklumpten Bakterien brauchten dabei durchaus nicht abgetötet zu sein. MÜLLER beobachtete, daß auch Chlorpräparate in stark unterschwelliger Konzentration zur Verklumpung von Bakterienzellen führen können, jedoch trat dieser Effekt nur in der Milch, nicht in Wasser auf.

Desinfektionsmittel sind als Hemmstoffe geeignet, biologische Hemmstofftests politiv zu beeinflussen. WELZ (39) hat angedeutet, daß Spuren von Desinfektionsmitteln in der Milch mit Hemmstofftests nicht nachweisbar sein dürften. JACQUET und STEEG (8) konnten im Agar - Diffusionstest QAV erst nachwei-

sen, wenn diese in der Milch in Konzentrationen von 1000 mg pro kg Milch vorlagen. Auch bei Chlorverbindungen fiel der Diffusionstest nur dann positiv aus, wenn diese in der Milch in konzentrierter Lösung vorlagen.

Es lag im Interesse von Wissenschaft und Praxis, zu ermitteln, ob die nach Reinigung und Desinfektion der Milchbehältnisse und Milchgerätschaften, bei Verzicht auf das Nachspülen, in die Milch übergehenden Desinfektionsmittelmengen die hygienische Beschaffenheit der Milch zu beeinflussen vermögen. Die Mengen der in praxi in die Milch übergehenden Desinfektionsmittel hängen von der Größe der Behältnisse, der Beschaffenheit deren Wandungen, der Konzentration der Desinfektionslösungen und vor allem von der Gründlichkeit des Nachspülens mit klarem Wasser ab. Wiesstark konzentriert soll eine Desinfektionslösung sein? MOHR (23) empfiehlt für die Praxis chlorhaltige Desinfektionsmittel in Konzentrationen von mindestens 100 mg freiem Chlor im Liter Wasser anzuwenden. Für QAV-haltige Desinfektionsmittel fordert er Gebrauchslösungen von mindestens 200 mg pro Liter Wasser. LONCIN (20) dagegen hält es für vorteilhafter Desinfektionslösungen von 250 - 500 mg QAV pro Liter Wasser zu verwenden. Die erforderliche Konzentration der Gebrauchslösung einer Ampholytseife wird von THOMÉ und Mitarbeitern (37) mit 50 - 100 mg wirksamer Substanz pro Liter Wasser angegeben.

Hinsichtlich der in Behältnissen zurückbleibenden Flüssigkeitsmenge haben SEELEMANN und WEGENER (34) festgestellt, daß in 40-1- bzw. 20-1-Kannen, sowie in 1-1- bzw. 0,5-1-Flaschen, 40 ml bzw. 25 ml und 3,7 bzw. 2,2 ml der Gebrauchslösung zurückbleiben, wenn diese Gefäße nach dem Ausleeren etwa 3 Sekunden abtropfen gelassen wurden. WILDBRETT (40) hat die von ihm ermittelten Desinfektionsmittelreste auf das Kannenvolumen bezogen. Danach wären im Liter Milch bei Verwendung von desinfizierten, nicht nachgespülten 20-1-Kannen bei vollständiger Füllung 0,05 mg freies Chlor bzw. 0,1 mg QAV zu erwarten. In 0,25-1-Flaschen sind es unter gleichen Bedingungen 0,3 mg freies Chlor bzw. 0,6 mg QAV pro Liter Milch. SEELEMANN und WEGENER (34) sowie WILDBRETT (40) haben bei Anwendung von Desinfektionslösungen in gebräuchlichen Konzentrationen auch bei Unterlassung der Nachspülung keine Beeinflussung des Keimwachstums und der mikrobiellen Fermentbildung durch Rückstände beobachten können. Bei der häufig sehr schlechten Versorgung der Milcherzeugerbetriebe mit hygienisch einwandfreiem Wasser hält es SEELEMANN daher für besser, von vornherein auf die Nachspülung der Milchkannen im bäuerlichen Betrieb zu verzichten. WILDBRETT (40) hält allerdings die in 0,25-1-Flaschen verbleibenden QAV - Reste unter Umständen

für ausreichend, die Säuerung zu verhindern, bzw. durch selektive Keimbeeinflussung fauligen Verderb von Rohmilch zu bewirken. SEELEMANN und WEGENER (34) fanden, daß erst bei Verwendung von 10-fach höher konzentrierten Gebrauchslösungen, als sie die Herstellerfirmen empfehlen und nur bei Verzicht auf das Nachspülen, die zu erwartenden Desinfektionsmittelrückstände die Milchkeime wirksam zu beeinflussen vermögen. Bei der quaternären Ammoniumverbindung konnten diese Autoren eine Keimverminderung von 30 % verzeichnen; beim Hypochlorit, der Ampholytseife und beim phenolhaltigen Polyphosphat bewirkten die Rückstände selbst bei Verwendung solch starker Gebrauchskonzentrationen noch keine Keimverminderung. Hinsichtlich des Einflusses von Desinfektionsmitteln in der Milch auf deren Geruch und Geschmack berichten diese Autoren, daß pro Liter Milch 0,9 ml handelsübliches Tego 51 (Ampholytseife), 0,5 g Calgonit D (phenolhaltiges Phosphat), 1 ml Stecorit (Hypochlorit) oder 0,09 ml Dosylan (QAV) zu eindeutig feststellbaren Geruchs- und Geschmacksabweichungen führen. Nach CALBERT (2) ist es praktisch unmöglich, eine Milch von zweifelhafter hygienischer Beschaffenheit mit einem chlor- oder NH_3 -haltigen Desinfektionsmittel zu schönern. Die dazu notwendigen Konzentrationen würden sich schon bei der grobsinnlichen Untersuchung durch Geruchs- und Geschmacksabweichung verraten.

Desinfektionsmittelreste können auch bei der Desinfektion von Melkmaschinen und Milchbehältnissen im Erzeugerbetrieb in die Milch übergehen. Nach CLEGG (3) und MUELLER (26) wären je nach Milchleistung einer Kuh mit 0,40 - 0,63 mg QAV pro Liter Milch zu rechnen, wenn die zur Desinfektion der Zitzenbecher verwendete Gebrauchslösung 400 mg pro Liter Wasser betrug und die anhaftenden Desinfektionsmittelreste nach erfolgter Desinfektion nicht herausgespült wurden. Diese Mengen erweisen sich nach diesen Autoren als bakteriologisch unwirksam.

Die oligodynamische Wirkung chemischer Substanzen war seit Entdeckung ihres gelegentlich stimulierenden Effektes auf mikrobiologische Vorgänge Gegenstand zahlreicher spezieller Untersuchungen. So berichtet HIRSCH (7), daß der Löhner'sche Randwulst auf Agarplatten seine Entstehung unter Umständen einem Stimulierungseffekt verdankt. LIACHOWETZKI (17) beobachtete, daß Typhusbazillen durch Einwirkung sehr niedriger Sublimat- oder Karbolsäurekonzentrationen zu einer Beschleunigung der Eigenbewegungen angeregt werde. DOERR (5) hat bekannt gegeben, daß metallisches Silber, Silberoxyd und Silbernitrat das Keimwachstum so stimulieren, daß sich auf der Agarplatte zwei konzentrische Stimulierungswälle darstellen. Diese Wälle

entstünden dabei weniger durch eine numerische Vermehrung der Kolonien als vielmehr durch das Wachstum von Riesenkolonien. LEMBKE und BÖNICKE (15) haben beobachtet, daß ein Gift innerhalb eines bestimmten Konzentrationsbereiches sowohl zu einer Schädigung als auch zu einer Förderung der Keime führen kann. Sublimatkonzentrationen, die bereits im bakteriziden Bereich lagen, bewirkten zunächst Wachstumsförderung, die jedoch nach Verbrauch der Reservestoffe der Bakterienzellen in Bakterizidie überging. LEISTNER (14) stellte Untersuchungen an über den Einfluß niedriger Konzentrationen der Desinfektionsmittel Tego 51, Quartasept und Neomoscan SB auf mikrobiologische Vorgänge. Er fand, daß jedes dieser Desinfektionsmittel geeignet war, in Konzentrationen von 1 - 10 mg pro Liter Nährmedium das Wachstum der Testkeime zu stimulieren. Insbesondere beobachtete er, daß Desinfektionsmittelkonzentrationen des sublethalen Bereichs alternierend Stimulierung und Hemmung des Keimwachstums bewirkten.

Bei Untersuchungen über die Wirkung von Desinfektionsmitteln sollte möglichst der gesamte Wirkungsablauf im Verlauf steigender Konzentrationen der Noxe ermittelt werden. JANOSCHEK (9) hat erstmals gefunden, daß zwischen der Konzentration einer Noxe und ihrer Wirkung auf die Bakterienzelle ein mathematisch erfaßbarer Zusammenhang besteht. Ausgehend von den Erkenntnissen der Quantenbiologie hat er das reaktionskinetische Grundgesetz in einer mathematischen Formel ausgedrückt. Dieser Ansatz ermöglicht nach JANOSCHEK (9) eine relativ genaue Voraussage der desinfizierenden Wirkung einer bestimmten Desinfektionsmittelkonzentration und ihrer Abhängigkeit von Schmutz und Eiweißsubstanzen (Eiweißfehler).

Was die Toxizität der mit Milch aufgenommenen Desinfektionsmittelmengen anbelangt, sei auf die Untersuchungen von SEELEMANN und WEGENER (35) verwiesen. Diese Autoren zeigten im Rattenfütterungsversuch, daß selbst lang anhaltende Verfütterung von schwach desinfektionsmittelhaltiger Milch keinerlei toxische Wirkung hatte. Selbst die 10-fache Dosis jener Menge, die bei Verzicht auf das Nachspülen nach der Desinfektion der Milchbehältnisse in die Milch gelangen könnte, führte zu keiner Gesundheitsstörung bei den Versuchstieren. Bei einer quaternären Ammoniumverbindung sollen 350 - 500 mg pro kg Körpergewicht eines Tieres zu akuten Toxizitätserscheinungen führen. Tego 51 wirkt sich nach LENDLE (16) für den Menschen erst nach mehrmaliger Aufnahme von 15 ml Handelsware pro Tag toxisch aus.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. MATERIAL

1. Desinfektionsmittel

Es wurde je ein Vertreter der vier wichtigsten Desinfektionsmittelgruppen von der entsprechenden Firma in handelsüblicher Form bezogen. Die wirksamen Substanzen dieser vier Desinfektionsmittel waren:

- a) Hypochlorit,
- b) QAV,
- c) Ampholytseife und
- d) phenolhaltiges Phosphat

Da bei den Untersuchungsergebnissen und deren Diskussion mit Ausnahme des phenolhaltigen Phosphates auf die wirksame Substanz des jeweiligen Desinfektionsmittels Bezug genommen wird und der Anteil der wirksamen Substanz in den handelsüblichen Lösungen nicht allgemein bekannt ist, müssen die Markenbezeichnungen der einzelnen Mittel anonym bleiben. (Zwei Firmen, die uns ihre Desinfektionsmittel zur Verfügung stellten, baten ausdrücklich darum.)

2. Milch

Der Vorteil einer Selektion der Milchkeime durch den Hitzeeinfluß bei der Pasteurisierung legte es nahe, für die Versuche pasteurisierte Trinkmilch zu verwenden.

II. METHODIK

Die Wirkung von Desinfektionsmittelrückständen in der Milch auf die Milchkeime wurde an folgenden mikrobiologischen Kriterien geprüft:

1. Reduktaseprobe

Das Reduktionsvermögen der Milchproben wurde nach der Methode von PESCH und SIMMERT (29) in der Modifikation von SCHÖNBERG (33) geprüft. 1 ml einer Resazurinlösung (1 Ampulle Resazurin der Fa. Retorte KG, Nürnberg, wurde in 250 ml aqu. dest. gelöst) wurde zu 10 ml Milch zugesetzt und der Ansatz eine Stunde bei 37° C im Wasserbad bebrütet.

2. Hemmstofftest

Mit dem TTC - Test nach NEAL und CALBERT (28) in einer am Institut praktizierten Modifikation (6) wurde das Minimum an Desinfektionsmitteln festgestellt, das mit diesem Test nachweisbar ist. Dabei wurde folgendermaßen verfahren: 9 ml der zu prüfenden Milch wurden nach 5 Minuten dauernder Erhitzung auf 85° C und anschließender Abkühlung auf 37° C 1 ml Joghurt Testkultur zugesetzt und der Ansatz 2 Stunden im Wasserbad bei 37° C bebrütet. Anschließend wurden die Proben mit 0,3 ml einer 2 %igen TTC - Lösung beschickt und nach Vermischung weitere 20 Minuten bei 37° C bebrütet. Bei schwacher Farbentwicklung wurden die Ansätze nochmals 10 Minuten im Wasserbad gehalten.

Vorbereitung der Testkultur:

10 ml steriler Magermilch werden mit 1 - 2 Ösen handelsüblicher Joghurtkultur beimpft und 14 Stunden bei 37° C bebrütet. Beim Ansetzen des Hemmstofftests wird die Joghurtkultur im Verhältnis 1 : 1 mit steriler Magermilch verdünnt und davon 1 ml pro Ansatz verwendet.

3. Bestimmung der Gesamtkeimzahl

Die Bestimmung erfolgte nach dem Koch'schen Plattenverfahren. Als Nährboden diente Chinablau - Laktoseagar mit einem pH - Wert von 6,6. Für die Verdünnung der einzelnen Milchproben wurden mit jeweils 9 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung beschickte Reagenzröhrchen verwendet. Die Nährböden wurden 2 Tage bei 30° C bebrütet. Es wurden nur Platten mit einer Kolonienzahl zwischen 30 und 300 ausgewertet. Alle Ansätze wurden doppelt angelegt.

4. Bestimmung des Säuerungsvermögens

Die Säuerung der Milchproben wurde nach Soxhlet - Henkel bestimmt.

III. VERSUCHE

1. Modellversuche

Um den Einfluß von Desinfektionsmitteln auf die hygienische Beschaffenheit der Milch zu prüfen, wurden pasteurisierte Milchproben mit steigenden Mengen des jeweiligen Desinfektionsmittels versetzt. Da hemmende und stimulierende Desinfektionsmittelkonzentrationen sehr nahe beieinanderliegen, wurden die Intervalle der Desinfektionsmittelkonzentrationen besonders in jenem Bereich sehr klein gehalten, in dem Stimulierungen zu erwarten waren. Dadurch wurde der zeitliche und technische Umfang der Versuchsanordnungen in einem solchen Maße erweitert, daß es unmöglich war ein und dasselbe Desinfektionsmittel an ein und derselben Milch vollständig durchzutesten. Aus diesem Grunde wurde folgende Versuchsanordnung gewählt: Zu je 100 ml Milch im Erlenmeyerkolben wurden die Lösungen von je einem hypochlorithaltigen Desinfektionsmittel, einer quaternären Ammoniumverbindung, einer Ampholytseife oder einem phenolhaltigen Phosphat zugegeben. Dabei wurden die Volumina der zugesetzten Desinfektionslösungen etwa gleichgehalten, nur die Konzentrationen variiert. Die Kolben wurden nach Zugabe der Desinfektionslösungen geschüttelt und mit Metallfolie abgedeckt. Nach sechsstündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur wurden jeweils 10 ml Milch nach erneutem Schütteln für die Reduktaseprobe und den Hemmstofftest entnommen. Das Ergebnis der Reduktaseprobe gab gleichzeitig Hinweis auf den Gesamtkeimgehalt und damit auf die bei der anschließend vorgenommenen Keimzahlbestimmung erforderliche Mindestverdünnung der einzelnen Proben.

Der Einfluß von Desinfektionsmitteln auf das Säuerungsvermögen wurde an Milch geprüft, die in 0,5-l-Flaschen ebenfalls mit steigenden Konzentrationen von Desinfektionsmitteln versetzt, durch mehrmaliges Stürzen der Flaschen vermischt und nach Abdeckung der Flaschen mit Metallfolie 18 Stunden bei 18° C aufbewahrt wurde. Wenn nach 18 Stunden erst wenig Milchsäure gebildet war, wurden die Ansätze für weitere 5 - 10 Stunden bei 18° C stehen gelassen.

a) Beeinflussung der Gesamtkeimzahl durch Desinfektionsmittel

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tabellen 1a - 4b zusammengestellt.

Tabelle 1a

Einfluß von Hypochlorit im Konzentrationsbereich von 0 - 6,1 mg/kg
Milch auf deren Keimgehalt nach sechsständiger Einwirkung
bei Zimmertemperatur

Hypochlorit in mg/kg Milch	Keimzahl ^{+) in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch}			
	I	II	III	IV
0	6,9 (100)	11 (100)	0,7 (100)	3,05 (100)
0,9	10,65 (154)	8,95 (81)	0,9 (126)	3,1 (101)
1,8	8,75 (126)	15,95 (145)	1,3 (183)	5,5 (180)
2,6	12,55 (181)	8,3 (75)	1,2 (180)	3,75 (123)
3,5	9,15 (132)	5,0 (45)	1,3 (183)	4,3 (141)
4,4	1,25 (18)	9,65 (87)	1,2 (180)	3,45 (113)
5,3	6,7 (97)	9,55 (86)	1,0 (147)	9,1 (298)
6,1	1,2 (17)	14,0 (127)	1,9 (277)	5,55 (182)

^{+) Die Zahlen stellen Durchschnittswerte aus doppelten Ansätzen dar}

Tabelle 1b

Einfluß von Hypochlorit im Konzentrationsbereich von 8, 8 - 79, 2 mg/kg Milch
auf deren Keimgehalt nach sechsstündiger Einwirkung bei Zimmertemperatur

Hypochlorit in mg/kg Milch	Keimzahl ^{+) in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch}			
	I	II	III	IV
0	0, 89 (100)	8, 05 (100)	10, 9 (100)	9, 2 (100)
8, 8	0, 36 (40)	6, 06 (75)	6, 35 (58)	7, 3 (79)
17, 6	0, 59 (66)	6, 25 (77)	5, 45 (50)	6, 6 (71)
26, 4	0, 34 (38)	3, 85 (47)	10, 3 (94)	2, 95 (32)
35, 2	0, 83 (93)	7, 8 (96)	3, 55 (32)	4, 05 (44)
44, 0	0, 26 (29)	8, 35 (103)	4, 75 (43)	8, 7 (94)
52, 8	0, 22 (24)	2, 7 (33)	4, 45 (40)	3, 45 (37)
61, 6	0, 16 (18)	3, 05 (37)	3, 85 (35)	4, 2 (45)
70, 4	0, 19 (21)	1, 8 (22)	3, 75 (34)	3, 8 (41)
79, 2	0, 22 (24)	2, 05 (25)	3, 05 (28)	3, 9 (42)

^{+) Siehe Fußnote Seite 12}

Tabelle 1c

Einfluß von Hypochlorit im Konzentrationsbereich von 88 - 352 mg/kg Milch
auf deren Keimgehalt nach sechsstündiger Einwirkung bei Zimmertemperatur

Hypochlorit in mg/kg Milch	Keimzahl ⁺⁾ in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch			
	I	II	III	IV
0	0,27 (100)	19,5 (100)	0,56 (100)	5,70 (100)
88	0,05 (18)	13,5 (70)	0,26 (46)	2,52 (44)
132	0,06 (22)	11 (56)	0,21 (37)	1,95 (34)
176	0,04 (14)	11,4 (58)	0,18 (32)	1,76 (30)
220	0,04 (14)	13,5 (69)	0,19 (33)	1,61 (28)
264	0,04 (14)	9,5 (48)	0,18 (32)	1,66 (29)
308	0,03 (11)	13,5 (69)	0,19 (33)	1,93 (33)
352	0,04 (14)	11 (56)	0,23 (41)	2,4 (43)

⁺⁾ Siehe Fußnote Seite 12

Tabelle 1d

Einfluß von Hypochlorit im Konzentrationsbereich von 396 - 792 mg/kg Milch
auf deren Keimgehalt nach sechsständiger Einwirkung bei Zimmertemperatur

Hypochlorit in mg/kg Milch	Keimzahl ^{+) in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch}			
	I	II	III	IV
0	46,85 (100)	63,85 (100)	39 (100)	5,95 (100)
396	1,3 (2)	2,6 (4)	1,7 (4)	0,25 (4)
462	2,3 (4)	5,7 (9)	1,3 (3)	0,4 (6)
528	2,4 (5)	2,3 (3)	0,91 (2)	0,21 (3)
549	1,5 (3)	3,65 (5)	0,02 --	-- --
660	0,2 --	2,9 (4)	0,003 --	-- --
726	-- --	0,04 --	-- --	-- --
792	-- --	0,004 --	-- --	-- --

^{+) S}iehe Fußnote Seite 12

Tabelle 2a

Einfluß von QAV im Konzentrationsbereich von 0 - 9 mg/kg Milch auf deren Keimgehalt nach sechsstündiger Einwirkung bei Zimmertemperatur

QAV in mg/kg Milch	Keimzahl ⁺⁾ in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch			
	I	II	III	IV
0	0,199 (100)	29,95 (100)	19,95 (100)	52,0 (100)
1	0,255 (128)	38,95 (130)	23,3 (116)	40 (76)
2	0,120 (60)	40,35 (134)	16,3 (81)	44,5 (85)
3	0,155 (77)	55 (183)	40,95 (205)	52 (100)
4	0,270 (135)	36,4 (121)	29,5 (147)	79 (151)
5	0,77 (386)	41,95 (140)	23,8 (119)	45,5 (87)
6	0,114 (57)	26,4 (88)	18,6 (93)	47,5 (91)
7	0,21 (105)	8,65 (18)	12,5 (62)	38,5 (74)
8	0,138 (69)	30,4 (101)	18 (90)	140 (269)
9	0,263 (132)	45,25 (151)	18,6 (93)	35 (67)

⁺⁾ Siehe Fußnote Seite 12

Tabelle 2b

Einfluß von QAV im Konzentrationsbereich von 20 - 150 mg/kg Milch auf deren Keimgehalt nach sechsständiger Einwirkung bei Zimmertemperatur

QAV in mg/kg Milch	Keimzahl ^{+) in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch}			
	I	II	III	IV
0	1,44 (100)	0,41 (100)	6,40 (100)	0,037 (100)
20	2,00 (138)	0,37 (90)	6,25 (97)	0,03 (81)
30	1,49 (103)	0,38 (92)	6,95 (108)	0,031 (83)
40	1,23 (85)	0,40 (97)	5,35 (83)	0,025 (67)
50	1,46 (101)	0,65 (158)	5,45 (85)	0,031 (83)
60	1,79 (124)	0,50 (122)	8,85 (138)	0,034 (91)
70	1,59 (110)	0,58 (141)	6,85 (107)	0,032 (86)
80	1,42 (98)	0,43 (104)	6,3 (98)	0,039 (105)
90	1,26 (87)	0,38 (92)	5,3 (82)	0,032 (86)
100	1,15 (79)	0,39 (95)	5,25 (82)	0,029 (78)
150	0,75 (52)	0,20 (48)	3,9 (60)	0,028 (75)

^{+) S}iehe Fußnote Seite 12

Tabelle 2c

Einfluß von QAV im Konzentrationsbereich von 200 - 700 mg/kg Milch auf deren Keimgehalt nach sechsständiger Einwirkung bei Zimmertemperatur

QAV in mg/kg Milch	Keimzahl ⁺⁾ in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch			
	I	II	III	IV
0	1,45 (100)	0,29 (100)	5,65 (100)	61,5 (100)
200	0,68 (46)	0,11 (38)	2,89 (51)	21,5 (35)
250	0,48 (33)	0,9 (31)	2,1 (37)	20,5 (33)
300	0,30 (20)	0,023 (7)	1,61 (28)	19,5 (31)
350	0,201 (13)	0,046 (15)	1,01 (17)	33 (53)
400	0,094 (6)	0,0032 (1)	0,86 (15)	19,5 (31)
450	0,086 (5)	0,0034 (1)	0,8 (14)	1,0 (1)
500	0,065 (4)	0,0029 (1)	0,69 (12)	0,9 (1)
650	0,122 (8)	--	1,14 (20)	0,085 --
700	0,002 --	--	--	0,004 --

⁺⁾ Siehe Fußnote Seite 12

Tabelle 3a

Einfluß der Ampholytseife im Konzentrationsbereich von 0 - 14 mg/kg Milch
auf deren Keimgehalt nach sechsständiger Einwirkung bei Zimmertemperatur

Ampholytseife in mg/kg Milch	Keimzahl ^{+) in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch}			
	I	II	III	IV
0	35 (100)	47 (100)	95 (100)	3, 85 (100)
2	30 (86)	34 (72)	125 (132)	3, 95 (103)
3	85 (243)	52, 5 (112)	82, 5 (87)	7, 35 (191)
4	19, 5 (56)	35, 9 (76)	47, 5 (50)	3, 85 (100)
5	18, 5 (53)	30, 2 (64)	45, 5 (48)	12, 55 (326)
6	46, 5 (133)	170 (362)	37, 5 (40)	3, 9 (101)
7	18 (51)	25, 5 (54)	110 (116)	2, 0 (52)
8	55 (157)	38, 2 (81)	385 (405)	5, 05 (131)
9	60 (171)	12, 5 (27)	187, 5 (197)	5, 05 (131)
10	37, 5 (107)	148 (300)	30 (32)	7, 65 (200)
12	83, 5 (239)	34 (72)	143, 5 (151)	6, 05 (157)
14	42 (120)	57, 5 (122)	26 (27)	3, 85 (100)

^{+) Siehe Fußnote Seite 12}

Tabelle 3b

Einfluß der Ampholytseife im Konzentrationsbereich von 40 - 320 mg/kg Milch
auf deren Keimgehalt nach sechsständiger Einwirkung bei Zimmertemperatur

Ampholytseife in mg/kg Milch	Keimzahl ⁺⁾ in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch			
	I	II	III	IV
0	0,40 (100)	0,041 (100)	6,50 (100)	2,15 (100)
40	0,36 (90)	0,027 (66)	6,25 (96)	2,0 (93)
60	0,37 (93)	0,032 (78)	7,15 (110)	3,05 (142)
80	0,40 (100)	0,015 (61)	7,45 (115)	2,65 (123)
100	0,41 (103)	0,031 (76)	7,85 (121)	3,6 (167)
120	0,49 (123)	0,030 (73)	6,1 (94)	2,06 (96)
140	0,44 (110)	0,050 (122)	6,3 (97)	1,9 (88)
160	0,39 (98)	0,018 (44)	8,15 (125)	2,15 (100)
180	0,41 (103)	0,054 (132)	21,5 (330)	3,95 (184)
200	0,42 (105)	0,040 (98)	6,3 (97)	1,75 (81)
240	0,40 (100)	0,040 (98)	6,6 (102)	1,85 (86)
280	0,51 (128)	0,049 (120)	8,3 (128)	1,55 (72)
320	--	0,007 (17)	8,2 (126)	1,7 (79)

⁺⁾ Siehe Fußnote Seite 12

Tabelle 3c

Einfluß der Ampholytseife im Konzentrationsbereich von 350 - 1600 mg/kg Milch
auf deren Keimgehalt nach sechstündiger Einwirkung bei Zimmertemperatur

Ampholytseife in mg/kg Milch	Keimzahl ⁺⁾ in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch			
	I	II	III	IV
0	62,5 (100)	28 (100)	127,5 (100)	6,90 (100)
350	19,5 (31)	10,5 (38)	65 (51)	2,9 (42)
400	22,5 (36)	11 (39)	71,5 (56)	1,32 (19)
450	28 (45)	13,2 (47)	77,5 (61)	0,92 (14)
500	29 (46)	12 (43)	63 (49)	0,92 (14)
550	29 (46)	13,25 (47)	65,5 (51)	0,74 (10)
600	20 (32)	10,1 (36)	62,5 (49)	0,62 (9)
1200	20 (32)	9,55 (34)	31,5 (25)	0,43 (6)
1400	0,625 --	--	0,8 --	--
1600	0,002 --	--	0,18 --	--

⁺⁾ Siehe Fußnote Seite 12

Tabelle 4a

Einfluß des phenolhaltigen Phosphats im Konzentrationsbereich von 0 - 280 mg/kg
Milch auf deren Keimgehalt nach sechsständiger Einwirkung bei Zimmertemperatur

Phenolhaltiges Phosphat in mg/kg Milch	Keimzahl ⁺⁾ in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch			
	I	II	III	IV
0	115 (100)	351, 5 (100)	18 (100)	31,5 (100)
20	215, 5 (187)	355 (101)	20, 5 (113)	321, 5 (102)
40	83 (72)	351, 5 (100)	22, 5 (125)	62 (19)
60	43 (37)	348 (99)	30 (166)	62 (19)
80	55 (47)	405 (115)	31, 5 (175)	95 (30)
100	129 (112)	675 (192)	34, 5 (191)	452, 5 (144)
120	222, 5 (193)	319, 5 (90)	39 (216)	61 (19)
140	135, 5 (117)	344, 5 (98)	30, 5 (169)	45 (14)
160	190 (165)	265 (75)	21 (116)	83 (26)
180	68 (59)	169 (48)	25, 5 (141)	65, 5 (20)
200	42, 5 (37)	224, 5 (63)	21, 4 (119)	88 (27)
240	32, 5 (28)	850 (241)	10 (55)	59, 5 (18)
280	--	--	62, 5 (347)	--

⁺⁾ siehe Fußnote Seite 12

Tabelle 4b

Einfluß des phenolhaltigen Phosphats im Konzentrationsbereich von 400 - 6500 mg/kg
Milch auf deren Keimgehalt nach sechsständiger Einwirkung bei Zimmertemperatur

Phenolhaltiges Phosphat in mg/kg Milch	Keimzahl ^{+) in Millionen pro ml Milch (% der desinfektionsmittelfreien Kontrolle) in Versuch}			
	I	II	III	IV
0	0, 133 (100)	0, 135 (100)	0, 023 (100)	4, 74 (100)
400	0, 140 (105)	0, 141 (104)	0, 02 (87)	4, 5 (94)
600	0, 126 (94)	0, 135 (100)	0, 019 (82)	3, 9 (82)
800	0, 134 (100)	0, 22 (163)	0, 021 (91)	4, 45 (93)
1000	0, 154 (115)	0, 15 (111)	0, 017 (73)	4, 4 (92)
1500	0, 257 (193)	0, 175 (129)	0, 022 (95)	7, 4 (155)
2000	0, 195 (146)	0, 20 (148)	0, 048 (208)	8, 75 (184)
2500 ++)	0, 175 (131)	0, 14 (103)	0, 034 (147)	4, 45 (93)
4000	0, 100 (75)	0, 09 (66)	0, 016 (113)	6, 25 (131)
5000	0, 170 (127)	0, 155 (114)	0, 025 (108)	5, 3 (111)
6500	0, 155 (116)	0, 115 (85)	0, 023 (100)	5, 15 (108)

^{+) S}iehe Fußnote Seite 12

⁺⁺⁾ Ab 2500 mg/kg war bereist starke Rotfärbung der Milch festzustellen

b) Beeinflussung der Reduktaseprobe durch Desinfektionsmittel

Die Ergebnisse von jeweils 8 Versuchsreihen sind in den Tab. 5 - 8 zusammengefaßt. Die Resazurinreduktionsintensität wurde in 6 Stufen unterteilt:

Reduktionsstufe	I	II	III	IV	V	VI
Farbton der Probe	Pastellblau	Blauviolett	Rotviolett	Rosa	Hellrosa	Blaßrosa

Tabelle 5

Einfluß von Hypochlorit auf die Reduktasebildung

Hypochloritkonzentration in mg/kg Milch	Reduktionsintensität in Versuch							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	IV	IV	III	II	VI	VI	IV	III
1,8	IV	IV ⁺)	III	II				
2,6	IV ⁺)	IV ⁺)	III	II				
3,5	IV ⁻	IV ⁻	III	II				
4,5	IV	IV	III	II				
6,2	IV	IV	III	II				
8,8					VI	VI	IV	III
17,6					V	V	IV	III
26,4					IV	IV	III	III
35,2					IV	III	III	III
44,0					II	III	III	III
52,8					II	II	II	III
61,6					II	II	II	II
70,4					II	II	II	II
79,2					II	II	II	II

+)) Das Resazurin war in diesen Röhrchen zu einem geringgradig helleren Farbton reduziert als in der desinfektionsmittelfreien Kontrolle.

Tabelle 6

Einfluß der quaternären Ammoniumverbindung auf
die Reduktasebildung

QAV- konzentration in mg/kg Milch	Reduktionsintensität in Versuch							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	I	VI	VI	III	V	IV	III	II
1	I	VI	VI	III				
2	I	VI	VI	III				
3	I	VI	VI	III				
4	I	VI	VI	III				
5	I	V	VI	III				
6	I	V	V	III				
7	I	V	IV	II				
8	I	IV	IV	II				
9	I	IV	IV	II				
20					IV	IV	IV	II
40					IV	IV	IV	II
60					III	III	IV	II
80					III	III	III	II
100					II	III	III	II
125					II	II	III	I
150					II	II	I	I
250					I	I	I	I

Tabelle 7

Einfluß der Ampholytseife auf die Reduktasebildung

Ampholytseifen- konzentration in mg/kg Milch	Reduktionsintensität in Versuch							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	V	V	V	II	V	II	IV	I
2	V	IV ⁺⁾	V	II				
3	V ⁺⁾	IV	V ⁺⁾	II				
4	V	IV	V	II				
5	V	IV	V	II				
6	V	IV	V	II				
7	V	IV	V	II				
8	V	IV	V	II				
9	V	IV	V	II				
10	V	III	V	II				
12	IV	III	V	II				
14	IV	III	IV	II				
20					V	II	IV	I
40					V	II	IV	I
60					IV	II	IV	I
80					IV	II	III	I
100					III	II	III	I
200					III	I	II	I
300					III	I	II	I
400					II	I	II	I

⁺⁾ Siehe Fußnote zu Tabelle 5

Tabelle 8

Einfluß des phenolhaltigen Phosphats auf die Reduktasebildung

Konzentration von phenolhaltigem Phos- phat in mg/kg Milch	Reduktionsintensität in Versuch							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	VI	VI	V	II	III	III	IV	II
20	V	V ⁺⁾	V	II				
40	V	V ⁺⁾	V	II				
60	V	IV	V	II				
80	V	IV	IV	II				
100	V	IV	IV	II				
120	V	IV	IV	II				
140	V	IV	IV	II				
160	V	III	IV	II				
200	V	III	III	II				
240	V	III	III	II				
500					II	III	III	II
750					II	III	III	II
1500					II	III	III	I
2000					I	III	III	I
4000					I	I	I	I

⁺⁾ Das Resazurin war in diesem Röhrchen zu einem geringgradig hellern Farbton reduziert als in dem Röhrchen mit dem nächst niedrigeren Gehalt von 20 mg phenolhaltigem Phosphat pro kg Milch.

c) Beeinflussung des TTC-Hemmstofftests durch Desinfektionsmittel

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen sind in Tab. 9 zusammengefaßt.

Tabelle 9

Mindestkonzentrationen an Desinfektionsmitteln, ab denen sich in den einzelnen Versuchen positive Hemmstofftests ergaben

Versuch	Desinfektionsmittelkonzentrationen in mg/kg Milch			
	Hypochlorit	QAV	Ampholytseife	Phenolhaltiges Phosphat
1	26,4	9,0	9,0	200
2	5,2	6,0	14,0	400
3	10,4	4,0	9,0	800
4	44,0	8,0	10,0	240
5	18,8	5,0	10,0	600
6	5,2	6,0	14,0	360
7	22,0	6,0	12,0	550
8	6,1	9,0	9,0	280

d) Beeinflussung des Säuerungsvermögens der Milch durch Desinfektionsmittel

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen sind in den Tab. 10 - 13 zusammengefaßt.

Tabelle 10

Einfluß von Hypochlorit auf das Säuerungsvermögen der Milch

Säuerung in SH ⁰ +) bei Hypochloritkonzentrationen in mg/kg Milch															
Versuch	0	2	3	5	10	15	20	25	30	35	40	50	60	70	90
I	(6, 0) 11, 1	13, 9	11, 0	10, 7	10, 6	10, 8	10, 4	9, 8							
II	(6, 8) 17, 6	19, 5	21, 4	17, 0	17, 2	16, 4	16, 8	15, 8							
III	(7, 2) 29, 0	28, 6	g	28, 0	27, 4	23, 6	20, 1	18, 8	16, 6	15, 2	14, 0	13, 1	10, 0	10, 0	7, 6
IV	(8, 0) 28, 0	28, 0	27, 0	26, 6	20, 0	18, 3	18, 4	18, 4	14, 0	14, 0	13, 8	10, 8	10, 0	9, 6	8, 0

Zeichenerklärung: g = „geronnen“

†) Die Werte stellen Durchschnittswerte aus jeweils zwei Titrationen von zwei verschiedenen Ansätzen dar.

+++) Die Werte in Klammern geben den SH⁰ der Milchen bei Versuchsbeginn an.

Tabelle 11

Einfluß von QAV auf das Säuerungsvermögen der Milch

Versuch	0	2	4	6	8	10	15	20	25
I	(6, 8) 14, 4 ++	13, 9	13, 6	13, 7	12, 0	11, 0	--	--	--
II	(9, 0) 25, 3 ++	24, 5	23, 4	22, 3	20, 2	19, 8	--	--	--
III	(8, 0) 29, 0 ++	24, 3	24, 0	22, 2	20, 6	18, 7	12, 5	11, 4	10, 6
IV	(8, 9) 22, 0 ++	21, 8	20, 9	20, 0	18, 2	14, 8	12, 0	10, 1	9, 7

+) ++) Siehe Fußnote Tab. 10

Tabelle 12

Einfluß einer Ampholytseife auf das Säuerungsvermögen der Milch

Versuch	0	4	8	12	15	20	25	30	40	50	70	100
I	(6,8) 17,2 ++	17,6	18,4	19,8	16,8	16,0	--	--	--	--	--	--
II	(7,0) 13,0 ++	13,9	14,7	18,2	13,8	13,5	--	--	--	--	--	--
III	(10,0) 29,0 ++	28,6	28,4	28,2	g	28,4	28,2	28,5	28,4	26,2	20,8	16,4
IV	(8,0) 29,0 ++	29,2	29,0	g	29,2	28,8	g	28,8	24,8	23,6	19,0	10,0

Zeichenerklärung: g = geronnen

+) ++ Siehe Fußnoten Tab. 10

Tabelle 13

Einfluß von phenolhaltigem Phosphat auf das Säuerungsvermögen der Milch

Versuch	0	20	40	60	80	100	120	150	200	300	400
I	(7, 0) 12, 0	13, 7	13, 6	13, 8	13, 0	13, 9	14, 9	---	---	---	---
II	(8, 9) 22, 0	22, 2	23, 2	23, 3	23, 1	24, 1	24, 6	---	---	---	---
III	(6, 8) 17, 1	16, 6	16, 4	16, 6	17, 2	16, 9	16, 9	14, 8	14, 6	14, 7	14, 0
IV	(8, 0) 29, 0	29, 2	29, 1	29, 2	29, 3	g	28, 6	27, 3	26, 6	27, 0	26, 2

Zeichenerklärung: g = geronnen

+) ++) Siehe Fußnoten Tab. 10

2. Besprechung der Ergebnisse aus den Modellversuchen

a) Keimzahl

Aus den Tab. 1a - 4b ist zu ersehen, daß die in der Milch natürlich vorkommenden Keime durch niedrige Desinfektionsmittelkonzentrationen zunächst fast immer vermehrt, dann mit zunehmender Desinfektionsmittelkonzentration vorübergehend vermindert werden. Danach war nochmaliges Ansteigen der Keimzahl zu verzeichnen, wobei allerdings die Werte der Kontrollen nicht immer überstiegen wurden; es liegt also in der zweiten Phase der Zunahme häufig nur eine relative Keimvermehrung vor. Die Desinfektionsmittelkonzentrationsbereiche, in denen Zunehmen bzw. Abnehmen der Keimzahl erfolgten, waren bei den jeweils 4 Versuchen nur in weiteren Bereichen übereinstimmend. Eine präzise Aussage über keimzahlfördernde oder keimzahlvermindernde Konzentrationen ist auf Grund dieser Ergebnisse daher nicht möglich. Feststeht jedoch, daß sich in jedem Fall zwei Phasen der Zunahme und zwei Phasen der Abnahme der Keimzahlen abzeichnen.

Zur besseren Übersicht sind in nachfolgender Tabelle (Tab. 14) für jedes Desinfektionsmittel einmal der Bereich angegeben, in dem die beiden Phasen der Keimzahlzunahme und der vorübergehenden Keimzahlabnahme auftreten, zum anderen der Grenzwert, von dem ab endgültige Keimzahlverminderung erfolgt.

b) Reduktaseprobe und Hemmstofftest

Aus den Tab. 5 - 8 und 9 ist zu ersehen, durch welche Desinfektionsmittelkonzentrationen Reduktaseprobe und Hemmstofftest beeinflußt werden.

Die Reduktaseprobe wird durch niedrige Konzentrationen zunächst häufig beschleunigt (siehe Fußnote zu Tab. 5, 7 und 8) und bei Konzentrationszunahme dann im allgemeinen gehemmt. Die Ergebnisse im TTC-Hemmstofftest differieren nur geringgradig im Falle der QAV, stärker im Falle des Hypochlorits und auch der Ampholytseife sowie des phenolhaltigen Phosphats.

Tabelle 14

Beeinflussung des Keimgehaltes der Milch durch zugesetzte Desinfektionsmittel. Zusammenfassende Übersicht der Tab. 1a - 4b

	Desinfektionsmittelkonzentrationen in mg/kg Milch			
	Hypo- chlorit	QAV	Ampholyt- seife	Phenol- haltiges Phosphat
Kein Einfluß, geringe Hem- mung oder Stimulierung	1 - 44	1 - 70	1 - 180	10 - 4000 ⁺⁾
deutliche Hemmung	> 44	> 150	> 350	-- ⁺⁾

Die Wirkungen von verschiedenen Desinfektionsmittelkonzentrationen auf Reduktaseprobe und Hemmstofftest sind in Tab. 15 zusammengefaßt.

Tabelle 15

Beeinflussung von Reduktaseprobe und Hemmstofftest durch zugesetzte Desinfektionsmittel

		Desinfektionsmittelkonzentrationen in mg/kg Milch			
		Hypo- chlorit	QAV	Ampholyt- seife	Phenol- haltiges Phosphat
Hemmung der Resa- zurin- probe	schwach	11	7	11	60
	stark	50	100	400	2000
im TTC-Hemm- stofftest positiv		> 5	> 4	> 9	> 200

⁺⁾ Bei 2500 mg/kg Milch bereits starke Rotfärbung durch Eigenfarbe des Desinfektionsmittels.

c) Säurebildung

Die Ergebnisse aus den Tab. 10 - 13 sind zur besseren Übersicht in Tab. 16 zusammengefaßt.

Tabelle 16

Beeinflussung der Säurebildung der Milch durch zugesetzte Desinfektionsmittel

		Desinfektionsmittelkonzentrationen in mg/kg Milch			
		Hypo- chlorit	QAV	Ampholyt- seife	Phenol- haltiges Phosphat
Stimulierung		2 - 3	--	8 - 15	40 - 120
	gering	5 - 10	2 - 8	40 - 70	150
Hemmung	mittel- gradig	10 - 40	8 - 15	70 - 100	-- ⁺⁾
	stark	> 40	15 - 25	> 100	-- ⁺⁾

Hypochlorit verzögerte schwach die Eigensäuerung der Milch in Konzentrationen von 5 - 10 mg pro Liter. Mittelgradige Säurehemmung war bei Hypochloritkonzentrationen von 10 - 40 mg und starke ab über 40 mg pro Liter Milch zu verzeichnen. Im Konzentrationsbereich von 2 - 3 mg pro Liter war Säurestimulierung festzustellen.

Bei der QAV erfolgte ab etwa 2 mg pro Liter Milch schwache, ab 8 mg mittelgradige und von 15 - 25 mg pro Liter Milch starke Hemmung der Eigensäuerung.

Die Ampholytseife wirkte erst im Bereich von 40 - 70 mg pro Liter schwach hemmend. 70 - 100 mg pro Liter bewirkten mittelgradige und Konzentrationen von mehr als 100 mg pro Liter Milch starke Hemmung der Säurebildung. Im Konzentrationsbereich von 8 - 15 mg pro Liter Milch wurde mehrmals Stimulierung der Eigensäuerung festgestellt.

+) Mittelgradige bis starke Hemmung trat erst bei solchen Konzentrationen ein, welche die Milch durch die Eigenfarbe des Desinfektionsmittels bereits deutlich rot verfärbten.

Das phenolierte Phosphat rief Hemmung der Eigensäuerung in stärkerem Ausmaß erst in einem Konzentrationsbereich hervor, in dem die Milch durch das Desinfektionsmittel bereits auffallend rötlich verfärbt wird. Geringgradige Hemmung wurde ab über 150 mg phenolhaltiges Phosphat pro Liter Milch beobachtet.

3. Der Praxis angeglichene Versuche

In dieser Versuchsreihe sollte im eigentlichen Sinne der Aufgabenstellung untersucht werden, ob und wie sich Desinfektionsmittelreste, wie sie in verschiedenen Gebinden bei Verzicht auf das Nachspülen zurückbleiben können, in der Milch auswirken, wenn diese Behältnisse nach erfolgter Desinfektion sofort mit Milch aufgefüllt werden. Aus diesem Grunde mußte zunächst geprüft werden, welche Mengen von den zu testenden Desinfektionsmittellösungen in nicht nachgespülten Milchflaschen zurückbleiben. Nachdem in Milch aus kleinen Gefäßen wegen der relativ großen Oberfläche ohnehin mit höheren Desinfektionsmittelkonzentrationen zu rechnen war als bei Kannen, wurden nur 0,5- und 0,25-l-Flaschen in die Versuche einbezogen. Die Konzentrationen der Lösungen mit denen die Flaschen gespült wurden, betrugen etwa das Doppelte der vom Hersteller empfohlenen Gebrauchskonzentration, um so auch die in der Praxis möglichen Überschreitungen der empfohlenen Konzentrationen zu erfassen. Außerdem wurden die nach der Desinfektion geleerten Flaschen nur 3 Sekunden abtropfen gelassen. Die Bestimmung der zurückgebliebenen Mengen erfolgte durch Abwiegen der Flaschen vor und nach der "Desinfektion".

Um auch den Einfluß der Oberflächenspannung des jeweiligen Desinfektionsmittels auf die Menge der zurückbleibenden Desinfektionsmittelreste mitzuerfassen, wurde die Oberflächenspannung eines jeden Desinfektionsmittels mit einem Interfacialtensiometer gemessen. Nach Feststellung der Rückstände durch Wägung wurden die Flaschen mit pasteurisierter Milch bis nahezu an den Rand gefüllt, mit steriler Metallfolie abgedeckt und zweimal gestürzt. Dann wurden zweimal 10 ml Milch für den TTC-Hemmstofftest entnommen, die Flaschen abermals mit der Metallfolie verschlossen und 18 Stunden bei 18° C stehen gelassen. Nach dieser Lagerung wurden die Resazurinprobe durchgeführt und die Säuregrade bestimmt.

a) Ergebnisse der Oberflächenspannungsmessungen an Desinfektionslösungen

Hypochlorit (0,4 %ig)	71,8 dyn/cm ²
QAV (2 %ig)	35,9 dyn/cm ²
Ampholytseife (1,5 %ig)	31,9 dyn/cm ²
Phenolhaltiges Phosphat (1 %ig)	29,8 dyn/cm ²

b) Desinfektionsmittelrückstände in Milchflaschen

Die Ergebnisse der Wägungen sind in Tab. 17 zusammengefaßt.

Tabelle 17

Rückstände bei Verzicht auf Nachspülung in
0,5- und 0,25-l-Flaschen

Flaschen- größe in l	Desinfektionslösungsrückstand in g ⁺⁾ (wirksame Substanz in mg/kg Milch)			
	Hypo- chlorit (0,4 %ig)	QAV (2 %ig)	Ampholyt- seife (1,5 %ig)	Phenolhaltiges Phosphat (1 %ig)
0,5	1,58 (0,58)	2,14 (4,28)	2,16 (6,48)	1,66 (33,2)
0,25	1,40 (1,05)	1,30 (5,20)	1,36 (8,16)	1,11 (44,4)

⁺⁾ Die Werte stellen Mittelwerte von 10 Wägungen dar.

c) Einfluß der in den Flaschen verbliebenen Desinfektionsmittelreste
auf die mikrobiologischen Vorgänge

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen (TTC-Heminstofftest, Reduktaseprobe, SH - Säuregrade) sind in den Tab. 18 und 19 zusammengefaßt.

4. Besprechung der Ergebnisse aus den der Praxis angepaßten Versuchen

a) Oberflächenspannungen der Desinfektionslösungen

Die auf Seite 37 angeführten Werte weisen zwar erhebliche Unterschiede auf, jedoch waren keine statistisch gesicherten Korrelationen zu den Rückständen zu ermitteln.

b) Desinfektionsmittelrückstände

Der Vergleich der Desinfektionsmittelrückstände in 0,5- und 0,25-l-Flaschen zeigt, daß in den Gebinden mit kleinerer Oberfläche relativ größeren Mengen an wirksamer Desinfektionssubstanz zurückbleiben als in den Gebinden von relativ größerer Oberfläche (Tab. 17). Beim chlorhaltigen Desinfektionsmittel war in 0,25-l-Flaschen bezogen auf das Volumen sogar beinahe doppelt soviel zurückbleibendes Hypochlorit zu ermitteln als in 0,5-l-Flaschen. Bei der QAV, der Ampholytseife und dem phenolhaltigen Phosphat waren diese Unterschiede geringer, jedoch ebenfalls deutlich. Die statistische Auswertung ließ - wie bereits erwähnt - für die geprüften Gefäße keinen Einfluß der Oberflächenspannung auf den Rückstand an Desinfektionslösung sichern. Ob bei größeren Gefäßen eine Sicherung möglich wäre, ist von untergeordneter Bedeutung, da in größeren Gefäßen die Konzentrationen der Desinfektionsmittelreste in der Milch bedeutend kleiner sind.

c) Einfluß der in den Flaschen verbliebenen Desinfektionsmittelreste auf die mikrobiologischen Vorgänge in der Milch

Aus den Tab. 18 und 19 geht hervor: Der TTC-Hemmstofftest bleibt durch die in 0,5- bzw. in 0,25-l-Flaschen verbliebenen Konzentrationen an phenolhaltigem Phosphat oder Hypochlorit unbeeinflusst. Das gleiche trifft zu für den in 0,5-l-Flaschen zurückbleibenden Ampholytseifenrest. Die in 0,25-l-Flaschen verbliebenen Reste bewirkten im Falle der QAV einmal ein positives und zweimal ein schwach positives Ergebnis des TTC-Hemmstofftests, im Falle der Ampholytseife nur einmal ein schwach positives Ergebnis. Auch in 0,5-l-Flaschen zurückgebliebene QAV - Reste bewirkten in zwei Ansätzen schwach positive Hemmstofftests.

Einfluß der in den 0, 5-l-Flaschen verbliebenen

Hemmstofftest und

Desinfektions- mittelart	Hypochlorit (0,4 %ig)				QAV (2 %ig)	
	1	2	3	4	1	2
Ansatz						
Rückstände in mg wirksamer Substanz pro kg Milch	0,68	0,59	0,55	0,41	5,0	4,8
TTC-Hemmstofftest	-	-	-	-	±	±
Resazurinprobe	-	-	-	-	-	-
SH - Säuregrade (Vergleichswerte der Kontrollen)	13,8 (14,0)	24,5 (24,8)	18,0 (18,0)	16,4 (16,0)	12,0 (14,0)	20,9 (24,8)

Zeichenerklärung:

+ positiv

- negativ

± schwach positiv

le 19

n Desinfektionsmittelrückstände auf Reduktaseprobe

Säuerungsvermögen

		Ampholytseife (1, 5 %ig)				Phenolhaltiges Phosphat (1 %ig)			
4									
3	5, 2	7, 8	7, 0	7, 2	8, 9	36	60	45	38
	-	-	-	-	±	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	16, 0	13, 0	25, 0	17, 4	15, 8	14, 6	24, 4	17, 6	15, 6
0)	(16, 0)	(14, 0)	(24, 8)	(18, 0)	(16, 0)	(14, 0)	(24, 8)	(18, 0)	(16, 0)

Die Reduktasebildung wurde bei keiner Desinfektionsmittelart durch die in 0,5- oder 0,25-l-Flaschen verbliebenen Reste gehemmt.

Die in den 0,5- und 0,25-l-Flaschen zurückgebliebenen Hypochloritmengen bewirkten in keinem der Ansätze eine verzögerte Milchsäurebildung. Im Gegenteil, sie führten bei zwei 0,25-l-Flaschen sogar zu geringer Steigerung der Milchsäurebildung. Nur QAV - Rückstände konnten sowohl in 0,25 - als auch in 0,5-l-Flaschen die Eigensäuerung der Milch verzögern. Reste von Ampholytseife und phenolhaltigem Phosphat bewirkten weder in 0,5- noch in 0,25-l-Flaschen Förderung oder Hemmung der Milchsäurebildung.

D. DISKUSSION

Die Anwendung von Desinfektionsmitteln ist in der modernen Betriebshygiene zur Vermeidung von Fehlfabrikaten und zur Abtötung eventuell vorhandener Krankheitserreger unerlässlich. Da diese Substanzen toxikologisch in Abhängigkeit von der Konzentration nicht von vornherein als unbedenklich anzusehen sind, muß ihre Anwendung kontrolliert erfolgen. Außerdem ergibt sich die Frage, ob die hygienische Beschaffenheit der Milch durch Desinfektionsmittelrückstände beeinflusst wird. Zur Klärung der letztgenannten Frage wurden sowohl in Modellversuchen als auch in Versuchen, die der Praxis angeglichen waren, die Wirkung von je einem Vertreter der vier gebräuchlichsten Desinfektionsmittelarten auf Keimwachstum, Reduktasebildung, Hemmstofftest und Säuerungsvermögen untersucht.

Die hygienische Beschaffenheit der Milch wird vor allem durch ihren Keimgehalt bestimmt. Durch saubere Gewinnung und Verarbeitung kann der Keimgehalt in niedrigen Bereichen gehalten werden. Wie aber auch in der übrigen Nahrungsmittelproduktion, wird auch auf milchwirtschaftlichem Gebiet gelegentlich versucht, mangelnde Sauberkeit und Hygiene durch eine großzügige Anwendung oder durch absichtlichen Zusatz von Desinfektionsmitteln zu kompensieren. Oft wird auch in Ermangelung von hygienisch einwandfreiem Wasser auf das Nachspülen der desinfizierten Milchgerätschaften und Behältnisse bewußt verzichtet. In den genannten Fällen ist mit mehr oder minder großen Desinfektionsmittelkonzentrationen in der Milch zu rechnen.

In dieser Arbeit wurde primär die Frage geprüft, ob solche Desinfektionsmittelrückstände aus Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen geeignet sind, das Wachstum der Milchkeime zu beeinflussen.⁴⁾ Vergleicht man die Konzentrationsbereiche der vier untersuchten Desinfektionsmittel (Tab. 14), bei denen Verminderung der Keimzahl festgestellt wurde, mit den in desinfizierten, jedoch nicht nachgespülten 0,5- und 0,25-l-Flaschen ermittelten und auf das Flaschenvolumen bezogenen Desinfektionsmittelrückständen (Tab. 17), so zeigt sich, daß diese Mengen zur Unterdrückung des Keimwachstums in der Milch nicht ausreichen. Im Gegenteil, der Vergleich zeigt, daß diese Desinfektionsmittelrückstände zum Teil sogar zu einer beträchtlichen Zunahme der Gesamtkeimzahl führen können. Die Frage, ob dieses Ansteigen der Gesamtkeim-

4) Siehe Fußnote Seite 41.

zahl bei niedrigen Desinfektionsmittelkonzentrationen in der Milch durch eine echte Stimulierung des bakteriellen Stoffwechselgeschehens oder lediglich durch eine grenzflächenaktive Wirkung der Desinfektionsmittel erfolgt, die eventuell das Auseinanderfallen von organisch in Trauben- oder Kettenform gewachsenen bzw. sonstwie verklumpten Bakterienzellen bedingt, wurde dann in einem zusätzlichen Versuch geklärt.⁴⁾ In diesen Untersuchungen wurde dann effektive Stimulierung im Sinne des Arndt - Schulze'schen Grundgesetzes festgestellt.

Daß sublethale Konzentrationen eines bakteriellen Hemmstoffes das mikrobielle Stoffwechselgeschehen stimulieren können, wurde u.a. schon von DOERR (5), HIRSCH (7), LEMBKE und BÖNICKE (15) sowie LEISTNER (14) beobachtet. In den eigenen Untersuchungen hatte innerhalb eines gewissen Konzentrationsbereiches jedes der vier untersuchten Desinfektionsmittel zu zweifachem Alternieren von Keimzahlabnahme und Keimzahlzunahme geführt. Stimulierende und hemmende Konzentrationen waren jedoch bei den einzelnen Desinfektionsmitteln verschieden. Auch bei ein und demselben Desinfektionsmittel waren die Stimulierungen nicht immer bei den gleichen Konzentrationen reproduzierbar (Tab. 1a mit 4b). Als Ursache für diese Varianz der Ergebnisse wird die heterogene Zusammensetzung der Mikroflora bei den unterschiedlichen Ausgangsmilchen angenommen, wobei neben Zahl und Eigenschaften der verschiedenen Keimarten eventuell auch die Vitalität der jeweiligen Flora bestimmend sein kann. Neben der spezifischen Wirkung eines Desinfektionsmittels auf eine bestimmte Bakterienart kommt es darauf an,

4) Die Milchproben des gleichen Ausgangsmaterials wurden zum Teil mit Desinfektionsmitteln versetzt, zum Teil erfolgte kein Zusatz. Nach Zugabe des Desinfektionsmittels wurden alle Proben mehrmals geschüttelt, dann 10 Minuten stehen gelassen; nach erneutem Schütteln wurden Keimzahlbestimmungen mit dem Koch'schen Plattenverfahren angesetzt, ebenso nach weiterer 6 stündiger Lagerung bei Zimmertemperatur. Die Keimzahlbestimmung wies weitgehende Übereinstimmung der desinfektionsmittelhaltigen mit den desinfektionsmittelfreien Proben auf. Somit hatte der Desinfektionsmittelzusatz keine Zerkleinerung der Bakterienanhäufungen und damit eine Zunahme der Kolonienzahl bewirkt. Die zweite Keimzahlbestimmung nach 6 Stunden hatte mitunter einen beträchtlichen Anstieg der Keimzahl in den Desinfektionsmittel enthaltenden Milchproben gegenüber den Kontrollen ergeben. Aus diesem Ergebnis wurde gefolgert, daß niedrige Desinfektionsmittelkonzentrationen eine echte Stimulierung des Keimwachstums bewirken können.

ob sich die Individuen der verschiedenen Bakterienarten bei Versuchsbeginn im Ruhe- oder schon in einem Vermehrungsstadium befinden. Innerhalb des gleichen Zeitraumes (in der Versuchsanordnung 6 Stunden) vermag z.B. eine sich im Induktionsstadium befindende Bakterienzelle weitaus mehr Tochterzellen zu bilden als eine im Ruhestadium befindliche, bei der die Entwicklung zum Induktionsstadium noch erfolgen muß.

Daß ein und dieselbe Keimart unter sonst gleichen Bedingungen bei Anstieg der Desinfektionsmittelkonzentration alternierend stimuliert und gehemmt wird, wobei mehrere Stimulierungsmaxima auftreten können, haben die obenangef. Autoren DOERR (5), HIRSCH (7), LEMBE und BÖNICKE (15) und LEISTNER (14) an erbreinen Testkulturen beobachtet.

Starke Hemmung des Keimwachstums bewirkten die einzelnen der Milch zugegebenen Desinfektionsmittel erst ab Konzentrationen, die nahe bei jenen liegen, die für die wäßrige Gebrauchslösung der einzelnen Desinfektionsmittel gefordert werden. Ursache für diese "Unwirksamkeit" ist der Eiweißfehler, dem die Wirkung eines jeden Desinfektionsmittels zu einem gewissen Grade unterworfen ist. Die Brauchbarkeit eines Desinfektionsmittels wird nicht zuletzt durch die Größe seines Eiweißfehlers bestimmt. Die in den Versuchen gefundenen keimhemmenden Konzentrationen sind daher nicht geeignet, den Wert der hier getesteten Desinfektionsmittel zu charakterisieren. Für die Wirksamkeit und damit für die Brauchbarkeit eines Desinfektionsmittels sind Zweck und Anwendungsart maßgebend.

Bei den übrigen, der hygienischen Überwachung der Milch dienenden Methoden wurden ebenfalls bestimmte Einflüsse der Desinfektionsmittel festgestellt. So hat sich für die Resazurinprobe, mit Ausnahme der QAV, bei jedem der geprüften Desinfektionsmittel zumindest in einigen Ansätzen die Möglichkeit einer Beschleunigung der Reduktasebildung der Milchkeime unter Einwirkung niedriger Desinfektionsmittelkonzentrationen ergeben. Das Resazurin war in diesen Fällen zwar meist nur geringfügig, gegenüber der Kontrolle aber doch deutlich stärker reduziert worden. Der stimulierende Einfluß niedriger Desinfektionsmittelkonzentrationen auf die Reduktasebildung der Milchkeime und seine Bedeutung für Routineuntersuchungen wäre in besonderen Untersuchungen noch eingehender zu prüfen, wobei dann die Intervalle zwischen den einzelnen der Milch zugesetzten Desinfektionsmittelkonzentrationen noch kleiner gehalten werden müßten als es in dieser Versuchsanordnung möglich war. Möglicherweise ließen sich dann auch bei der QAV stimulierende Konzentrationen nachweisen.

Bei der Bestimmung der kleinsten Desinfektionsmittelkonzentrationen, die in der Milch ein positives Ergebnis im TTC-Hemmstofftest bewirkt, wurden zum Teil stark variierende Werte gefunden. Die in einigen Milchproben mit dem TTC-Hemmstofftest erfaßten Desinfektionsmittelkonzentrationen lagen gelegentlich weit über jenen, welche in anderen Versuchen bereits die Reduktasebildung und die Eigensäuerung der Milch verzögerten (Vergleiche Tab. 15 und 16). Auch WELZ (39) hatte bereits angedeutet, daß Spuren von Desinfektionsmitteln in der Milch mit den bisher üblichen "Hygiene - Tests" nicht erfaßt werden können. Wahrscheinlich würde der Hemmstofftest empfindlicher reagieren, wenn vor dem Ansatz der häufig unterschiedliche Milchsäuregehalt der zu testenden Probe gepuffert würde. Mit der von WILDBRETT (41) praktizierten Extraktion des Formazans mit Alkohol zur quantitativen photometrischen Bestimmung würde sich ein objektiveres Kriterium für das Ausmaß der Hemmwirkung von Desinfektionsmittelresten oder anderen Hemmstoffen in der Milch bieten.

Auch bei der Prüfung des Einflusses von Desinfektionsmitteln auf das Säuerungsvermögen der Milch konnte festgestellt werden, daß relativ niedrige Desinfektionsmittelkonzentrationen an Hypochlorit, Ampholytseife und phenolhaltigem Phosphat geringgradig stimulierend wirken können. Als Kriterium für die Stimulierung wurde dabei die Zunahme des Säuregehaltes einer desinfektionsmittelhaltigen Milch um mindestens 2 SH⁰ über die Säuremenge der Kontrolle angeschlagen. Daß Hemmstoffe in niedriger Konzentration die Eigensäuerung der Milch zu beschleunigen vermögen, hatten auch BABEL(1) und WILDBRETT (40) festgestellt. Bei der QAV war keine Stimulierung der Säurebildung zu erkennen. Ob sich bei einer feineren Abstufung der Desinfektionsmittelkonzentrationen nicht auch bei diesem Mittel eine Förderung der Eigensäuerung ergäbe, müßte noch geprüft werden. Vergleicht man Tab. 17 mit Tab. 16 so zeigt sich, daß zur starken Hemmung der Eigensäuerung einer Milch größere Mengen an Desinfektionsmitteln erforderlich sind, als sie in 0,5- und 0,25-l-Flaschen zurückbleiben können, wenn diese nach erfolgter Desinfektion nicht nachgespült werden. Die unter solchen Bedingungen eventuell in diesen Flaschen zurückbleibenden Desinfektionsmittelkonzentrationen waren nur im Falle der QAV stark genug, die Säurebildung geringgradig zu verzögern.

Aus dem Prinzip, Lebensmittel von fremden Stoffen freizuhalten, ergibt sich auch die Forderung, Desinfektionsmittel so anzuwenden, daß keine vermeidbaren Mengen in die Milch gelangen. Dieser berechtigte Anspruch des Verbrauchers erfordert u. a. gründliches Nachspülen von Milchgerätschaften

und Milchbehältnissen, besonders der Flaschen, nach erfolgter Desinfektion. Der von SEELEMANN und WEGENER (34) angesprochene Notstand in bezug auf die Trinkwasserversorgung hat nur für die Belange des Milcherzeugerbetriebes seine Bedeutung. Die Beseitigung von Desinfektionsmittelrückständen, vor allem das Nachspülen der Milchflaschen ist aber nicht nur eine prinzipielle Frage, auch biologische Gründe sprechen dafür. Die bei Verzicht auf das Nachspülen nach der Desinfektion in den 0,5- und 0,25-l-Flaschen verbleibenden Desinfektionsmittelrückstände liegen nämlich in einem Konzentrationsbereich, in dem, wie die Modellversuche gezeigt haben, die Milchkeime zu einer Wachstumsstimulierung angeregt werden können. Beschleunigter Verderb wäre die Folge. Keinesfalls sind die zurückbleibenden Mengen geeignet, die mikrobiologischen Vorgänge in stärkerem Maße zu hemmen. So konnten auch im Falle der QAV in den der Praxis angeglichenen Versuchen die Desinfektionsmittelrückstände die Säurebildung nur geringgradig verzögern, im Falle der Hypochloritverbindung bewirkten sie sogar Stimulierung der Säurebildung. Förderung oder Verzögerung der Reduktasebildung durch Desinfektionsmittelrückstände, die bei erfolgter Desinfektion und bei Verzicht auf Nachspülung mit klarem Wasser in 0,5- und 0,25-l-Flaschen verbleiben können, konnte in den der Praxis angeglichenen Versuchen nicht nachgewiesen werden. Unter solchen Bedingungen zu erwartende Konzentrationen können auch nur im Falle der QAV und der Ampholytseife - auch bei diesen Desinfektionsmitteln nur auf Grund ihrer Anwendung in etwa doppelter Gebrauchskonzentration - zu positivem Ausfall des TTC-Hemmstofftestes führen.

Wenn in der Praxis eine Probe mit positivem TTC-Hemmstofftest ermittelt wird, können auf Grund dieser Ergebnisse folgende Schlüsse gezogen werden:

1. Möglicher Gehalt der Milch an Antibiotika oder anderen Therapeutika aus Mastitisbehandlungen
2. Grobfahrlässiger Umgang mit Desinfektionsmitteln
3. Vorsätzlicher Zusatz von Desinfektionsmitteln

In allen Fällen wäre eine Beanstandung gerechtfertigt. Die Anwesenheit von Antibiotika ist wohl die häufigste Ursache für ein positives Ergebnis im Hemmstofftest, im allgemeinen jedoch nur, wenn die Milch schon vor Ablauf der 5 tägigen Karenzzeit nach Euterbehandlungen in den Verkehr gebracht wird. Allerdings muß noch auf Untersuchungen von UVAROV (38) verwiesen werden, nach denen Penicillin bei Applikation von 300 000 i. E. pro Euterviertel bis zu 14 Tagen nachzuweisen war. Normalerweise werden aber nur 100 000 i. E. empfohlen, wobei dann Penicillin höchstens 3 Tage lang nachweisbar ist.

Sollte es in bestimmten Fällen notwendig sein, den Hemmstoff wenigstens seiner Gruppenzugehörigkeit nach zu differenzieren, so bietet sich dafür der von MOSSEL und Mitarbeitern (25) empfohlene Kluyvertest besonders an, da die hierbei als Testorganismus verwendete Hefe durch Antibiotika nicht oder nur in sehr hohen Konzentrationen beeinflusst wird.

Die Qualität einer Milch von zweifelhafter hygienischer Beschaffenheit kann durch vorsätzlichen Zusatz von Desinfektionsmitteln nicht geschönt werden. Betrügerische Manipulationen solcher Art würden sich nur dann "lohnen", wenn der Ausfall der Resazurinprobe bei Routineuntersuchungen der Anlieferungsmilch in der Molkerei als Kriterium für deren hygienische Beschaffenheit durch die Hemmwirkung der zugesetzten Desinfektionsmittel so beeinflusst würde, daß er der Reduktionsstufe II entspräche (Vergleiche Reduktionsstufen auf Seite 24). Zur Erzielung dieses Effektes wären jedoch so große Desinfektionsmittelkonzentrationen notwendig, daß sie mit dem TTC-Hemmstofftest mit Sicherheit erfaßt werden könnten. Desinfektionsmittel in solchen Konzentrationen würden sich dann aber auch schon durch grobsinnliche Untersuchung feststellen lassen. (Vergleiche SEELEMANN und Mitarbeiter (34), CALBERT (2)).

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Desinfektionsmittel können in niedrigen Konzentrationen Wachstum, Reduktase- und Säurebildung der Milchkeime stimulieren. Schon aus diesem Grunde ist das Nachspülen von desinfizierten Milchbehältnissen unerlässlich.
2. Resazurinprobe und TTC-Hemmstofftest sind im allgemeinen nicht geeignet, Desinfektionsmittelreste in der Milch zu erfassen, wie sie in Milchflaschen nach Desinfektion bei Verzicht auf gründliches Nachspülen zurückbleiben können.
3. Sofern Desinfektionsmittel auf mikrobiologischem Wege in der Milch nachgewiesen werden können, kann entweder grobfahrlässige Anwendung oder vorsätzlicher Zusatz dieser Mittel angenommen werden.
4. Zur Verschleierung hygienisch schlechter Milch sind Desinfektionsmittel in solcher Menge erforderlich, daß sie sich bereits grobsinnlich wahrnehmen lassen würden.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. Babel, F.J.: Changes in the bacterial population of milk due to the addition of some chemical bactericides (Abstracts of papers presented at the forty - ninth annual meeting). J. Dairy Sci. 37 (1954), 635;
2. Calbert, H.E.: Residual effects of chemical sanitizers. Butter, Cheese, Milk Products J. 42 (1951), 30;
3. Clegg, F.L., und V. Sargeant: The effect of addition of quaternary ammonium compounds on the keeping quality of raw milk. Dairy Ind. 20 (1955), 486; ref. Manuale lactis, Folge II, K1. 8, S. 570;
4. Curry, J.C., und F.W. Barber: "Inhibition" of Streptococcus lactis by a quaternary ammonium compound in cheese milks. J. Milk and Food Technol. 15 (1952), 278; zit. nach Babel: J. Dairy Sci. 38 (1955), 705;
5. Doerr, R.: Zur Oligodynamie des Silbers. 2. Mitteilung Biochem. Zschr. 107, (1920), 207;
6. Dragon, G.: Ein Beitrag zur Ermittlung von Hemmstoffen in der Trinkmilch mittels Tetrazoliumsalz als Indikator und die Möglichkeit ihrer weiteren Differenzierung mit Hilfe des Kluyver-Gärungstestes. Milchwiss. 13 (1958), 304;
7. Hirsch, W.: Beitrag zur Entstehung des Löhner'schen Randwulstes. Zbl. I Orig. 126 (1932), 484;
8. Jacquet, J., und L. Steeg: Methode microbiologique de diagnose et de titrage des antibiotiques présents dans le lait et les produits laitiers. Ann. Fals, Fraudes 46 (1953), 5;

9. Janoschek, A.: Die quantenbiologische Analyse. Zbl. Bakter. I Orig. 164 (1955), 204;
10. Johns, C.K.: Substances in herd milks inhibiting acid production. J. Agr. Sci. 33 (1953), 586;
11. Kiermeier, F.: Gedanken zur Reinigung und Desinfektion in Lebensmittelbetrieben. Dt. Molk. Ztg. 76 (1955), 1090;
12. Kosikowski, F.V.,
R. W. Henningson und
G.J. Silvermann: The incidence of antibiotics, sulfa drugs and quaternary ammonium compounds in the fluid milk supply of New York state. J. Dairy Sci. 35 (1952), 533;
13. Kotter, L.,
G. Terplan und
H. Schulz: Biologischer Nachweis von Hemmstoffen in Lebensmitteln tierischer Herkunft. Arch. Lebensmittelhyg. 10 (1959), 145;
14. Leistner, L.: Desinfektion oder Stimulierung? Fleischwirtschaft 9 (1957), 13;
15. Lembke, A., und
Bönicke: Experimentelle Störungen des Lebensvorganges und deren Wert für die Deutung des lebendigen Geschehens bei Einzellern. Zbl. Bakter. I. Orig. 153 (1948 - 1949), 145;
16. Lendle, L.: Gutachten über mögliche Gesundheitsschädigung durch Tego 51 bei Verwendung zur Desinfektion von Gefäßen, die zur Aufbewahrung von Nahrungsmitteln dienen. Literaturdienst der Firma Goldschmidt AG, Gutachten vom 20.10.1954;
17. Liachowetzki, M.: Die Einwirkung des Sublimats und der Karbolsäure auf den Typhusbacillus, den Choleravibrio und einige andere bewegliche Bakterien. Zbl. Bakter. I Orig. 50 (1909), 473;

18. Lindgreen, B.: Nagra desinfektionsmedels inverkan på syruingskulturen. Svenska Mejeritidn. 44 (1952), 193; zit. nach Babel J. Dairy Sci. 38 (1955), 705;
19. Lindgreen, B.: Tego 51, ett nytt desinfektionsmedel för lautbrück och mejerier. Svenska Mejeritidn. 45 (1953), 491; ref. Manuale lactis, Folge II, Kl. 8, S. 104;
20. Loncin, M.: Die quaternären Ammoniumverbindungen und ihre Verwendung in der Molkerei. Probleme neuzeitlicher Milchwirtschaft. Festschrift für o. Prof. em. Dr. Anton Fehr zum 70. Geburtstag 24.12.51. ref. in Manuale lactis, Folge II, Kl. 8, S. 118;
21. Mc. Culloch, EC., St. Hauge und H. Migake: The quaternary ammonium compounds in Sanitazion. A. I. Publ. Health 38 (1948), 493;
22. Miller, D., und P.R. Elliker: Effect of quaternary ammonium compounds on activity of lactic acid starter bacteria in milk and cheese. J. Dairy Sci. 34 (1951), 279;
23. Mohr, W.: Reinigung und Desinfektion in der Milchwirtschaft. Verlag Th. Mann KG, Hildesheim 1954, S. 115;
24. Mosel, v.d.: Die Breite der keimtötenden Wirkung und das Resistenz-Problem des Desinfektionsmittels Tego 51. Die Fleischwirtschaft 12 (1960), 460;
25. Mossel, D.A.A., J.G. Mandersloot und A.S.S. Gentis: A simplified microbiological test for the detection of preservatives in milk and milk products. Neth. Milk Dairy 79 (1955), 63;
26. Mueller, W.S.: How much quaternary gets into milk? Amer. Milk. Rev. 14 (1952), 42, 92; ref. Manuale lactis, Folge II, Kl. 8, S. 572;

27. Müller, G.: Ein Beitrag zur Frage der Beeinflussung der Milch durch Desinfektionsmittel. Diss. Giessen 1961;
28. Neal, C.E., und H.E. Calbert: Detection of Lactic Starter Inhibitors Using 2, 3, 5- Triphenyltetrazolium Chloride. The Milk Products Journal, 47: (NO. 3) 14. 1956;
29. Pesch, und Simmert: Die Bestimmung der Reduktionszeit in der Milch. Milchwirtschaft. Forsch. 8 (1929), 568;
30. Pietz, P.: Untersuchungen über den chemischen Nachweis von Natriumhypochlorit und Wasserstoffperoxyd in der Anlieferungsmilch und eingestellten Trinkvollmilch sowie die dadurch auftretenden Verzögerungen der Reduktasezeiten. Milchwissenschaft 10 (1955), 442;
31. Resuggan, I.C.L.: Quaternary ammonium compounds and toxicity. Dairy Ind. 19 (1954), 1027; ref. in Manuale lactis, Folge II, Kl. 8, S. 123;
32. Schmidt, O.: Die Wirkung lebensfeindlicher Noxen auf Sacch. cerevisiae in Abhängigkeit vom Milieu. Diss. Giessen, 1958;
33. Schönberg, F.: Milchkunde und Milchhygiene. Verlag M.& H. Schaper, Hannover, 1956, S. 349;
34. Seelemann, M., und K.H. Wegener: Beeinflussung der Milch durch Desinfektionsmittel. Kieler Milchwirtschaftl. Forschungsber. 8 (1956), 381;
35. Seelemann, M., und K.H. Wegener: Beitrag zur Gesundheitsschädlichkeit von Desinfektionsmittelresten in der Milch. Kieler Milchwirtschaftl. Forschungsber. 9 (1957), 485;
36. Thomas, S.B., P.M. Hobson und E.R. Bird: Incidence of hypochlorit in farm milk supplies. Dairy Ind. 24 (1950), 686; ref. in Manuale lactis, Folge II, Kl. 8, S. 573;

37. Thomé, K.E.,
T.F. Nilsson,
P. Swartling,
R. Signer und
G.A. Nilsson: Provning av desinfektionsmedel Tego 51.
Stat. Maskinprovningar, Alnarp/Schweden.
Medd. Nr. 199; ref. manuale lactis, Folge II,
Kl. 8, S. 106;
38. Uvarov, O.,: The concentration of some antibiotics in the
milk after intramammary infusion. The Ve-
terinary Record 72 (1960), 1228;
39. Welz, W.,: Beitrag zur Methodik biologischer Hemmstoff-
reste in Milch. Arch. Lebensmittelhyg. 12
(1961), 196;
40. Wildbrett, G.: Der Einfluß von Desinfektionsmitteln auf die
Verarbeitung von Käseemilch. Proceedings
of the Second International Congress of Surface
Activity IV, S. 119. Butterworths Scientific
Publications, London 1957;
41. Wildbrett, G.: Bedeutung haftender Rückstände kationaktiver
Desinfektionsmittel für die Milchwirtschaft.
Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und
-forschung 118 (1962), 40;

Herr Prof. Dr. L. Kotter sei für
Überlassung des Themas und stets
freundliche Unterstützung bedankt.

Ebenso danke ich Herrn Privatdozent
Dr. G. Terplan für seine zahl-
reichen Anregungen.

LEBENS LAUF

Sohn des Ingenieurs Stefan Pfeiffer und seiner Ehefrau Irene Pfeiffer, geb. Lindacher, Lehrerin wurde ich am 1.12.1936 in Schandern, Ungarn, geboren.

Im Herbst des Jahres 1944 wurde ich mit meinen Eltern aus der Heimat vertrieben.

Die erste Klasse der Volksschule besuchte ich im Jahre 1945 in Kematen, Kreis Wels, Österreich, die übrigen Klassen in der Volksschule Ettensberg, Kreis Kempten.

1948 trat ich in das Progymnasium der Salesianer in Buxheim, Kreis Memmingen ein, von dem ich 1954 an das Humanistische Gymnasium Memmingen übertrat. 1957 bestand ich das Abitur und begann im gleichen Jahr das Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München.

1962 legte ich die tierärztliche Prüfung ab.

